

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 9 月 30 日 (30.09.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/083250 A1(51) 国際特許分類⁷: C07K 16/40, A61K 39/00, A61P
7/04, C12N 9/64, G01N 33/53, 33/564奈良県橿原市四条町 8 4 0 奈良県立医科大学内 Nara
(JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/003602

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.); 〒
1050001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森
ビル 3階 Tokyo (JP).

(22) 国際出願日: 2004 年 3 月 17 日 (17.03.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2003-071979 2003 年 3 月 17 日 (17.03.2003) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 財
団法人化学及血清療法研究所 (JURIDICAL FOUN-
DATION THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RE-
SEARCH INSTITUTE) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊
本市大窪一丁目 6 番 1 号 Kumamoto (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 副島 見事 (SOE-
JIMA, Kenji) [JP/JP]; 〒8691298 熊本県菊池郡旭志村
川辺四の西沖 1 3 1 4 - 1 財団法人化学及血清療法
研究所 菊池研究所内 Kumamoto (JP). 中垣 智弘 (NAK-
AGAKI, Tomohiro) [JP/JP]; 〒8691298 熊本県菊池郡旭
志村川辺四の西沖 1 3 1 4 - 1 財団法人化学及血清
療法研究所 菊池研究所内 Kumamoto (JP). 松本 雅則
(MATSUMOTO, Masanori) [JP/JP]; 〒6348521 奈良県
橿原市四条町 8 4 0 奈良県立医科大学内 Nara (JP).
藤村 吉博 (FUJIMURA, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒6348521(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が
可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG,
KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。(54) Title: CONSTRUCT COMPRISING RECOGNITION DOMAIN OF ANTIBODY AGAINST VON WILLEBRAND FAC-
TOR-SPECIFIC CLEAVING ENZYME

(54) 発明の名称: フォンビルブランド因子特異的切断酵素に対する抗体の認識領域からなる構成物

(57) Abstract: It is intended to provide an epitope recognized by an antibody (hereinafter referred to as anti-ADAMTS-13 antibody
in some cases) against an enzyme (hereinafter referred to as ADAMTS-13 in some cases) specifically cleaving von Willebrand factor
(hereinafter referred to as vWF in some cases), and a polypeptide containing this epitope domain. A polypeptide located at from the
449- to 687-positions in the amino acid sequences constituting ADAMTS-13 which is recognized by the anti-ADAMTS-13 antibody
or a peptide fragment originating in this polypeptide.(57) 要約: フォンビルブランド因子(von WillebrandFactor : 以下、vWFと称することがある)の特異的切断酵素 (以
下、ADAMTS-13と称することがある) に対する抗体 (以下、本抗体を抗ADAMTS-13抗体と称することがある)
が認識するエピトープ及び当該エピトープ領域を含むポリペプチドを提供する。抗ADAMTS-13抗体が認識する
ADAMTS-13を構成するアミノ酸配列の449位から687位領域に存在するポリペプチドまたは当該ポリペプチド
に由来するペプチド断片。

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/083250 A1

明 細 書

フォンビルブランド因子特異的切断酵素に対する抗体の認識領域からなる構成物

技術分野

本願発明は、医療用医薬品の分野に関する。詳細には、血液凝固に関与するフォンビルブランド因子(von Willebrand Factor: 以下、vWFと称することがある)の特異的切断酵素(以下、ADAMTS-13と称することがある)に対する抗体(以下、本抗体を抗ADAMTS-13抗体と称することがある)が認識するエピトープ及び当該エピトープ領域を含むポリペプチドならびに当該ポリペプチドを認識する抗体に関する。

本願発明で提供されるADAMTS-13に対する抗体の認識するエピトープ領域を含むポリペプチドあるいはペプチド断片により、ADAMTS-13に対する自己抗体の有無の診断あるいは自己抗体の吸収剤あるいは自己抗体陽性にともなう疾病患者へのADAMTS-13の補充療法の可能性が拓かれる。

背景技術

vWFは、血管内皮細胞や骨髄巨核球で産生され、2050アミノ酸残基(モノマー約250kDa)からなる単一サブユニットがS-S結合にて結ばれたマルチマー構造(分子量500~20,000kDa)を持って存在している止血因子である。血中濃度は約10 μ g/mlで、一般に高分子量のものほど比活性が高い。

vWFには2つの大きな止血因子としての機能があり、1つは血液凝固第VIII因子と結合し、これを安定化させるキャリアー蛋白質としての働き、もう1つは傷害血管壁の血管内皮細胞下組織に血小板を粘着・凝集させ、血小板血栓を形成する機能である。

血栓性血小板減少性紫斑病(以下、TTPと称することがある)は、全身の体組織細動脈と毛細血管に血小板血栓を生じる疾患であり、今日の医療技術の進歩にもかかわらず、当該疾患での関連死亡率は1971~1991年にかけて約3倍に増加している。病理学的に、TTPは血管内皮細胞障害や血管内血小板凝集

によって惹き起こされると考えられており、免疫組織学的には生じた血小板血栓中に多量の vWF の存在が認められ、vWF がこの成因に大きな役割を果たしていると考えられている。TTP には遺伝的素因を有すると考えられる家族性（先天性）のものと特に成人において発症する後天性（特発性）のものなどに大別される。TTP 患者の vWF のマルチマー構造は正常もしくは高分子量が優位となっており、特に通常では見られない超高分子量の vWF (unusually large vWF multimer: UL vWF M) や高分子量 vWF 重合体 (large vWF multimer: L vWF M) が、高ずり応力下での血小板凝集の促進と微小血栓形成に大きな役割を果たしていることが推察される。一方で、vWF は健常人の循環血液中で高ずり応力下、vWF 切断酵素 (vWF-cleaving protease) の作用により 842 Tyr - 843 Met の位置で分解を受けることが知られていた。したがって、TTP は血漿中の当該酵素活性が何らかの原因で低下して、UL vWF M ないし L vWF M が増加して血小板凝集が亢進し、血管内に血小板血栓が形成されるためというシナリオが描かれている。

2001 年、前記酵素活性を有する活性本体である vWF 切断酵素、別名 ADAMTS-13 をコードする遺伝子が本願発明者等によりクローニングされた（特開 2003-284570 号公報）。以下に、ADAMTS-13 の分子構造に関する知見を整理する。括弧内におおよその目安となる開始コドン (ATG) のメチオニンからの残基番号の位置を示す（配列番号 1 参照）。

ADAMTS-13 のドメイン構成は Signal peptide に続いて Propeptide が存在し、次いで、Furin の切断モチーフの RQRR 配列が存在し、HEXXHXXGXXHD のコンセンサス配列からなる Reprolysin タイプの亜鉛キレート領域を含む Metalloprotease domain が続く（アミノ酸残基番号 284 位 (P285X) まで）。そして、蛇毒メタロプロテアーゼで見出されるような Disintegrin-like domain を経て（アミノ酸残基番号 386 位 (W387X) まで）、一般的に分子認識に重要と考えられているおおよそ 50～60 残基からなる最初の Tspl motif (Tspl-1)（アミノ酸残基番号 448 位 (Q449X) まで）へとつながり、さらに、細胞接着モチーフの 1 つである RGDS 配列が含まれる Cys-rich region（アミノ酸残基番号 580 位 (T581X) まで）へと続く。次いで、システイン残基を全く含まない約 130 アミノ酸残基からなる

Spacer domain (アミノ酸残基番号 687 位 (W688X) まで) を経て、再び Tsp1 motif の繰り返し (Tsp1-2~8) の後、補体成分 C1r あるいは C1s の中に最初に見つかったとされる CUB domain-1, 2 が続く。

ところで、ADAMTS-13 に対する主要な中和エピトープ領域に関しての知見はこれまでのところ全く得られていない。また、当該酵素に対する自己抗体陽性患者の簡便な診断法も確立されていない。

斯かる状況に鑑み、本願発明の第一の課題は、ADAMTS-13 上に存在する中和エピトープの同定とそれにより発案される自己抗体を主たる対象とする抗体の中和・吸収材に係る発明である。

本願発明の第二の課題は、斯かる中和・吸収材の製造方法を提供することにある。

本願発明の第三の課題は、斯かる中和・吸収材の用途を提供することにある。

本願発明の第四の課題は、斯かるエピトープを改変することにより得られる vWF 特異的切断酵素全長もしくは部分改変分子の製造方法を提供することにある。

本願発明の第五の課題は、斯かるエピトープを改変することにより得られる vWF 特異的切断酵素全長もしくは部分改変分子の用途を提供することにある。

vWF 特異的切断酵素の先天性欠損患者及び後天性の当該酵素に対する抗体陽性患者の治療法として、現在までプラズマ交換療法が施されており、当該酵素の精製品または遺伝子組換え体等純品による補充療法の確立が望まれる。家族性 TTP 患者は、先天性に vWF 特異的切断酵素が欠損しており、非家族性では後天的に当該酵素に対する自己抗体の産生が原因と報告されている。したがって、家族性 TTP 患者には、当該酵素の補充療法が望ましく（現実には血漿投与が行われている）、非家族性では、血漿交換による自己抗体の除去と当該酵素の補充が必要である。

しかし、自己抗体陽性患者への ADAMTS-13 の補充投与においては患者血液中存在する当該酵素に対する抗体、すなわち自己抗体によって中和されることにより、投与された酵素は酵素活性を失い実質的には濃度が減ぜられる。しかし、先の出願（特願 2002-279924）の ADAMTS-13 に対する抗体のエピトープの決定方法、あるいは本願発明において同定された中和領域の利用ならびに本願

発明において用いられた競合阻害法のウェスタンブロッティングを行うことにより新たに同定されうる中和エピトープ領域を部分改変した分子を調製することで、当該酵素に対する抗体陽性患者への投与が可能になる。あるいは本願発明によって提供される中和領域を含むポリペプチド等による抗体の吸収が可能になる。

発明の開示

上述の状況の下、本願発明者等は先の出願（特開 2003-284570 号公報）において vWF 切断酵素の単離同定を達成するべく、鋭意研究を重ねた結果、従来報告のなかった所望の vWF 切断酵素の精製単離に成功し、その成熟型蛋白質のアミノ酸配列及び当該アミノ酸配列をコードする遺伝子を同定するに至った。

そして、先の出願（特開 2003-284570 号公報）記載の遺伝子組換え技術を利用して得られた知見に基づき、活性発現に必須と考えられる領域を特定した（特願 2002-279924）。この知見に基づいて調製された変異体分子を利用した本願発明の後天性 TTP 患者の抗 ADAMTS-13 に対する自己抗体の認識する主要中和領域解析の結果、該自己抗体の認識領域は前記の活性発現に必須と考えられる領域と一致して、Cys-rich 領域（499 位程度）から Spacer 領域（687 位程度）に存在することが明らかとなった。よって、本願発明で提供される抗 ADAMTS-13 抗体に関する主要な中和エピトープ領域の主たる要件は、ADAMTS-13 を構成するポリペプチド中の Cys-rich 領域（499 位程度）から Spacer 領域（687 位程度）の領域または同等のアミノ酸配列を有するペプチド断片である。すなわち、本発明はフォンビルブランド因子特異的切断酵素（以下、vWF CP もしくは ADAMTS-13 と称することがある）に対する抗体が認識する、当該酵素の中和エピトープ領域を包含するポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片であり、前記中和エピトープ領域が、配列番号 1 に示されるアミノ酸配列の 449 位から 687 位領域に存在するものである請求項 1 記載のポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片である。さらに、本発明は、配列番号 1 に示されるアミノ酸配列の 449 位から 687 位のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片であり、配列番号 1 に示されるアミノ酸配列の 449 位から 687 位のアミノ酸配列において

1個または数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつフォンビルブランド因子特異的切断酵素に対する抗体が認識するポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片である。ここで、1個または数個とは1個から5個、好ましくは1個から3個さらに好ましくは1個もしくは2個をいう。

そして、この知見から得られる ADAMTS-13 のアミノ酸配列を基に調製される中和エпитープ領域のポリペプチド等を抗原にして、通常の免疫方法 (Current Protocols in Molecular Biology, Edited by F. M. Ausbel et al. (1987)、Antibody Engineering: A PRACTICAL APPROACH Edited by J. McCafferty et al. (1996)、Antibodies: A Laboratory Manual, Edited by Harlow David Lane (1988) あるいは ANTIBODY ENGINEERING second edition Edited by Carl A. K. BORREBAECK (1995)) によってモノクローナル及びポリクローナル抗体等の作製が可能である。あるいは、ファージディスプレイ技術を利用した抗体作製技術 (Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual Edited by Brian K. Kay et al. (1996)、Antibody Engineering: A PRACTICAL APPROACH Edited by J. McCafferty et al. (1996)、あるいは ANTIBODY ENGINEERING second edition edited by Carl A. K. BORREBAECK (1995)) により当該蛋白質 (ADAMTS-13) と結合する抗体の作出が可能である。あるいは、これらの技術に基づき、本酵素に対する自己抗体陽性である TTP 患者検体からの本酵素活性の中和抗体もしくは単なる結合抗体の単離も可能である。そして、これらの抗体を用いることで、本酵素量の変動を伴う疾病、例えば TTP などの疾患の診断及び治療への応用が可能となる。本発明はこれらの抗体をも含有する。

一実施態様において、本発明は、TTP 様の疾患または vWF 依存性の血栓症の恐れのある患者を診断する方法に関し、該方法は、以下の工程を含む：

本酵素量の変動を伴う疾病に関する診断的アッセイは、患者からの生物学的試料を用いて行われる。これらの試料は、直接的に用いられることができ、またはいくつかの事例においては、アッセイを行う前に処置、例えば干渉する可能性のある試料中の物質を除去することなどを必要とすることができる。適した生物学的試料の例は、血液、尿、汗、組織または血清である。該方法は、上記生物学的

試料中の v W F 切断酵素に対する自己抗体を検出することを含む。

(a) 患者から得られた生物学的試料を、ADAMTS-13 もしくはその部分ペプチド断片を固定化した固型支持物と接触させること；

(b) 固型支持物を、現像剤標識化抗ヒト免疫グロブリン抗体と接触させること；及び、(c) 試料中における抗 ADAMTS-13 抗体の濃度に相応する値を得るために、工程 (b) において特異的に結合している現像剤の標識を検出すること。

上記診断は、公知のイムノアッセイ方法により行うことができ、固形支持物としてはポリスチレン等の樹脂製のビーズ、プレート等を用いることができ、現像剤としては、放射性同位元素、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ等の酵素、蛍光物質等を用いることができる。

本願発明の他の実施態様として、本発明のポリペプチドは、抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者への投与による自己抗体の中和剤としてまたは、自己抗体除去剤としても有用である。この場合、自己抗体の中和とは、自己抗体に結合し自己抗体が v W F 切断酵素に結合することを阻害することをいう。この方法において、ポリペプチドは、場合によっては適した支持物等、当該分野に公知の方法を用いて固定化される。次いで、除去すべき抗 ADAMTS-13 抗体を含む試料、たとえば患者血液と固定化したポリペプチドを接触させることで患者試料中から自己抗体を除去する。この際、抗 ADAMTS-13 抗体に特異的なリガンドが結合した担体と患者の血液または血漿を接触させ、血液または血漿中の抗 ADAMTS-13 抗体を前記リガンドに結合させることにより血液または血漿から該抗体を除去し、次いで抗体を除去した血液または血漿を患者に再注入すればよい。ここで、抗 ADAMTS-13 抗体に特異的なリガンドとしては、前記ポリペプチドまたはポリペプチド由来のペプチド断片を用いることができる。また、接触は例えば患者血液または血漿を上記リガンドが結合した担体に通過させればよい。さらに、本発明は上記のポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片が結合した担体と抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者の血液または血漿を接触させ、血液または血漿中の抗 ADAMTS-13 抗体を前記リガンドに結合させ血液または血漿から該抗体を除去することにより抗 ADAMTS-13 抗体を含まない血液または血漿を製造する方法を包含する。

抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者への投与する自己抗体の中和剤は、上記のポリペプ

チドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を有効成分として含む抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者処置用医薬組成物である。さらに、ポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片が分子置換・欠失・挿入などの改変により抗 ADAMTS-13 抗体との反応性が消失したポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を有効成分として含む抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者処置用医薬組成物である。ここで、分子置換・欠失・挿入などの改変とは、例えば上記ポリペプチドまたは該ポリペプチド由来のペプチド断片のアミノ酸配列において、1個または複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されることをいう。このような改変により、例えばポリペプチドまたはペプチド断片の構造が変化し、エピトープを喪失することにより、抗 ADAMTS-13 抗体との反応性が消失する。例えば、抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者への投与による自己抗体の中和剤として本発明の抗 ADAMTS-13 抗体の認識するポリペプチドを使用する場合、生理食塩水、緩衝液等で希釈して製剤化し、医薬組成物を得ることもできる。製剤の pH は体液の pH に近い弱酸性～中性域の pH が望ましく、その下限は 5.0～6.4 が望ましく、その上限は pH 6.4～7.4 が望ましい。また、凍結乾燥形態等の長期間保存可能な形態で提供することもでき、この場合使用時に水、生理食塩水、緩衝液等で所望の濃度になるように溶解して使用することができる。本発明の製剤は、通常医薬品に用いられる薬理学的に許容される添加剤（例えば担体、賦形剤、希釈剤等）、安定化剤または製薬上必要な成分を含有していてもよい。安定化剤としては、グルコース等の単糖類、サッカロース、マルトース等の二糖類、マンニトール、ソルビトール等の糖アルコール、塩化ナトリウム等の中性塩、グリシン等のアミノ酸、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレンーポリオキシプロピレン共重合体（プルロニック）、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（トウイーン）等の非イオン系界面活性剤、ヒトアルブミン等が例示され、1～10 w/v % 程度が添加されていることが好ましい。

本発明の医薬組成物は、静脈内注射、筋肉内注射、皮下注射等により有効量で投与することができ、1回または数回に分けて投与される。その投与量は、症状、年齢、体重などによって異なるが、1回あたり、0.001 mg～100 mg が好

ましい。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願 2003-071979 号の明細書および/または図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

図 1 は、抗体のエピトープを決定するための C 末欠失変異体作製法を示す図である。

図 2 は、調製された C 末欠失変異体の発現を抗 FLAG 抗体を用いて非還元下ウェスタンブロットにてその存在量を確認した写真である。

図 3 は、後天性 TTP 患者 003 に由来する精製 IgG による非還元下ウェスタンブロットによる認識領域の確認を行った写真である。

図 4 は、後天性 TTP 患者 004 に由来する精製 IgG による非還元下ウェスタンブロットによる認識領域の確認を行った写真である。

図 5 は、後天性 TTP 患者 009 に由来する精製 IgG による非還元下ウェスタンブロットによる認識領域の確認を行った写真である。

図 6 は、後天性 TTP 患者に由来する精製 IgG のより詳細な認識領域の確認を行った写真である。

発明を実施するための最良の形態

以下に、実施例に従って本願発明を詳説するが、本願発明はこれら実施例に何等限定されるものではない。

実施例

調製例 1

(ADAMTS-13 C 末欠失変異体の作製)

先の特許出願（特願 2002-279924）記載の全長及び C 末端より逐次ドメインを欠失させた変異体（Fu111427、T1135X、W1016X、W897X、W808X、W746X、W688X、T581X、Q449X、W387X、P285X、：それぞれの数字は開始コドン ATG のコードする Met から終結コドンまでのアミノ酸の残基数を示し、X は stop コドンを表す。）遺伝子発現ベクターを利用して、Hela 細胞を用いて、以下の手順でトラ

ンスフェクトした。図1に各変異体の全長配列中における位置を示す。

まず初めに、トランスフェクションの24時間前に $1-3 \times 10^5$ 個/35mm dish で細胞を播き、その翌日に上記発現ベクターを $2 \mu\text{g}$ 当たり $10 \mu\text{l}$ の Polyamine Transfection Reagent である TransIT (TAKARA 社製) をとり、Opti-MEM 等の無血清培地 $200 \mu\text{l}$ に添加して、試薬添付文書に従い、DNA とのコンプレックスを調製後、準備しておいた前記各種細胞へ滴下し、6時間インキュベーションし、その72時間後、培地を回収した。それぞれの変異体を適宜濃縮したものの検出は抗 FLAG-M2 抗体 (コダック社製) を用いたウエスタンブロット法により、抗マウス IgG-アルカリフォスファターゼ酵素標識抗体系で染色して行った (図2に発現の様子を確認した結果を示す。)。

実施例 1

(ウエスタンブロットを利用した後天性 TTP 患者抗体のエピトープの解析)

常法により、プロテインAカラムを用いて後天性患者血漿より IgG 画分を調製し (抗体濃度約 $2-5 \text{ mg/ml}$)、それを200倍希釈してウエスタンブロットを行った。フィルターは二次抗体に抗ヒト IgG アルカリフォスファターゼ標識抗体を用いてBCIP/NBT基質により染色し可視化した (図3~5)。これらにより決定された抗体の認識領域は3者の抗体画分いずれにおいても W688X まで反応し Q449X で反応しないことから Q449X よりも C 末端側に存在することが確認された。

実施例 2

(競合阻害の原理に基づくウエスタンブロットを利用した後天性 TTP 患者抗体の詳細なエピトープの解析)

次にさらに詳細な本中和抗体の認識エピトープを絞り込むために、W688X 及び Full-length wild type の上清を電気泳動し PVDF 膜へトランスファーしたものを、前述の患者抗体を予め大過剰の Q449X、W688X、あるいは Full-length wild type の発現上清の濃縮物とプレインキュベーションしたものを一次抗体反応液として用いることで競合阻害の系により、W688X によりいずれの検体も Full-length wild type の陽性バンドが消失することを確認した (図6)。

このことからこの3者の抗体はいずれも W688X よりも N 末側を認識しているこ

とが示唆された。

以上、実施例 1, 2 に示す結果により、用いた 3 者の自己抗体は、Q449X 末側で W688X よりも N 末側すなわち Q449X と W688X の間である Cys-rich 領域から Spacer 領域が主要な中和領域であることが確認された。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

産業上の利用の可能性

本願発明によりもたらされた知見により、この発明のポリペプチドは、抗 ADAMTS-13 抗体に対して特異的に免疫反応性を示す。したがって抗 ADAMTS-13 抗体量の迅速な検出、本酵素変動に伴う疾病の診断あるいは抗 ADAMTS-13 抗体の結合あるいは阻害活性の中和が可能となる。このように、本願発明で提供されるポリペプチドは、抗 ADAMTS-13 抗体の検出をはじめとする多種多様の用途を提供するものでもある。

本願発明は、斯くも顕著な作用効果を発揮するものであり、斯界に貢献すること誠に多大な意義のある発明であると云える。

請求の範囲

1. フォンビルブランド因子特異的切断酵素（以下、vWFCPもしくはADAMTS-13と称することがある）に対する抗体が認識する、当該酵素の中和エпитープ領域を包含するポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片。
2. 前記中和エпитープ領域が、配列番号1に示されるアミノ酸配列の449位から687位領域に存在するものである請求項1記載のポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片。
3. 配列番号1に示されるアミノ酸配列の449位から687位のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片。
4. 配列番号1に示されるアミノ酸配列の449位から687位のアミノ酸配列において1個または数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつフォンビルブランド因子特異的切断酵素に対する抗体が認識するポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片。
5. 請求項1から4のいずれか1項に記載のポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片に結合性を有する抗体。
6. 抗ADAMTS-13抗体陽性患者血液中に存在する請求項5の抗体。
7. 非家族性血小板減少性紫斑病（以下、当該疾病をTTPと称することがある）患者血液中に存在する請求項5または6に記載の抗体。
8. ADAMTS-13を構成するポリペプチドの全配列または請求項1から4のいずれか1項に記載のポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を含む抗体測定試薬。
9. TTP患者の自己抗体を検出対象とする請求項8記載の抗体測定試薬。
10. 請求項1から4のいずれか1項に記載のポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を有効成分として含む抗ADAMTS-13抗体陽性患者処置用医薬組成物。
11. 請求項1から4のいずれか1項に記載のポリペプチドまたは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片が分子置換・欠失・挿入などの改変により抗

ADAMTS-13 抗体との反応性が消失したポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を有効成分として含む請求項 10 記載の抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者処置用医薬組成物。

12. 抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者の処置のための、患者への投与による抗体の中和に用いられる請求項 10 または 11 に記載の医薬組成物。

13. 抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者を処置するための抗 ADAMTS-13 抗体に特異的なリガンドを含む組成物であって、担体に結合させ前記患者の血漿と接触させ抗 ADAMTS-13 抗体を患者の血漿から除去するための用いられる請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片を有効成分として含む組成物。

14. 請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載のポリペプチドもしくは当該ポリペプチドに由来するペプチド断片が結合した担体と抗 ADAMTS-13 抗体陽性患者の血液または血漿を接触させ、血液または血漿中の抗 ADAMTS-13 抗体を前記リガンドに結合させ血液または血漿から該抗体を除去することにより抗 ADAMTS-13 抗体を含まない血液または血漿を製造する方法。

図 1

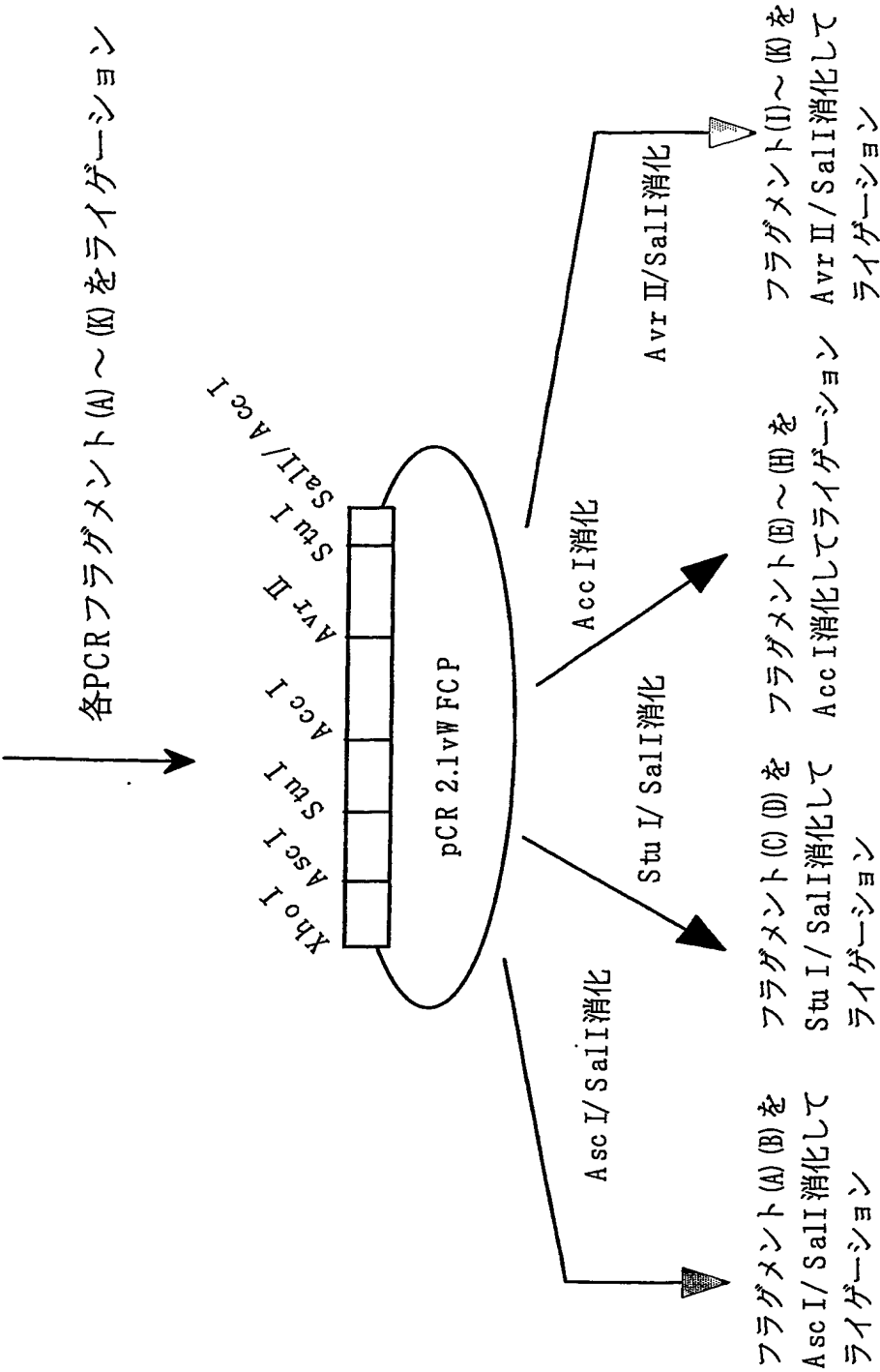


図 2

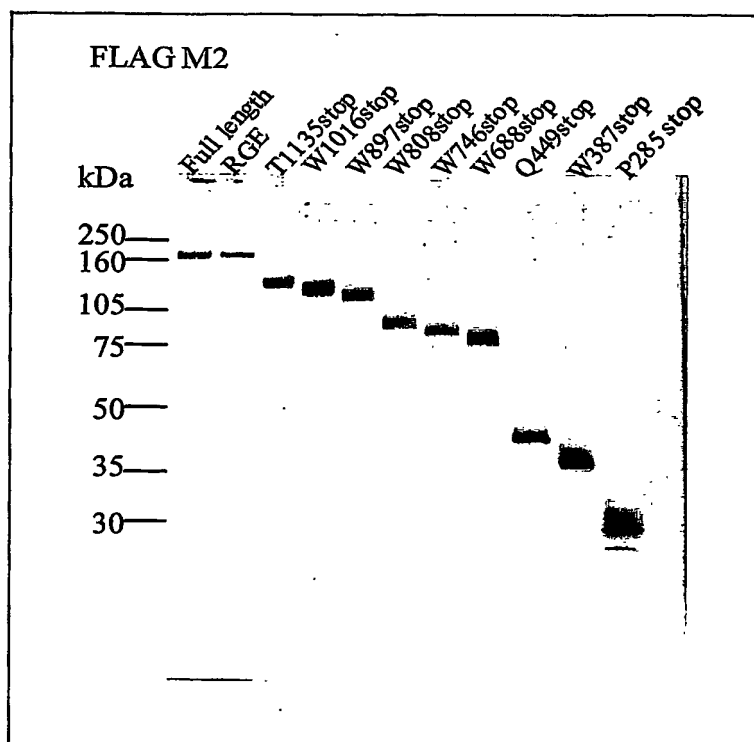


図 3

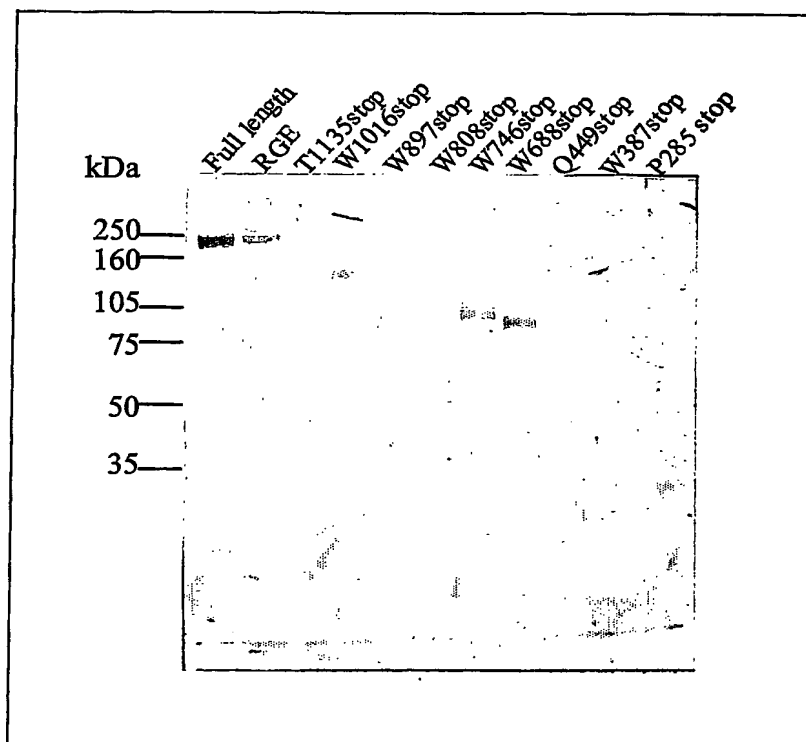


図 4

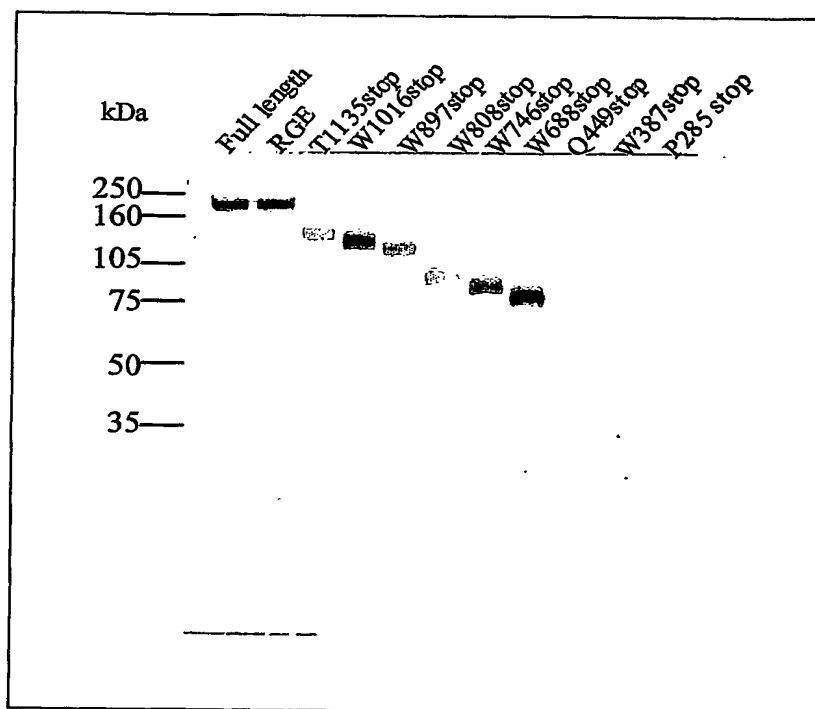


図 5

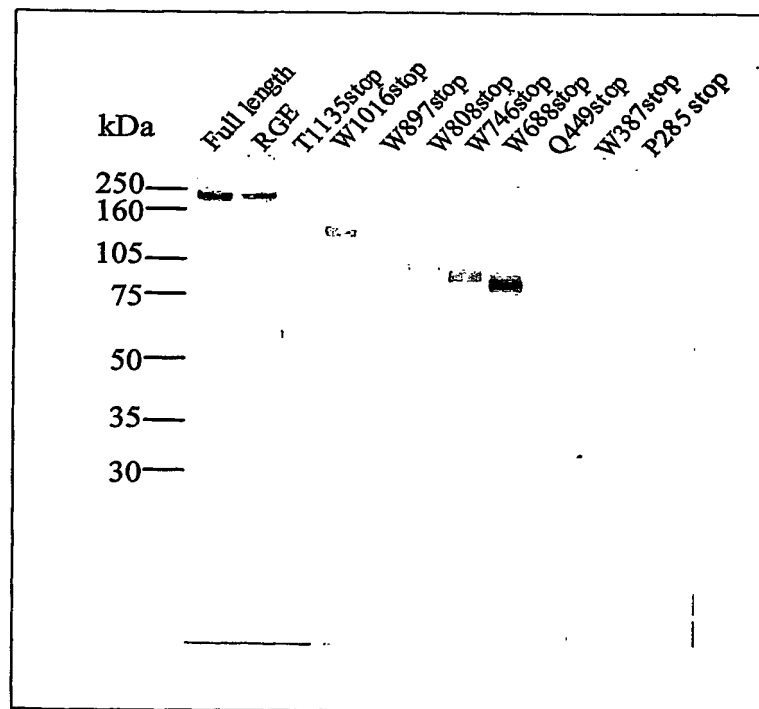
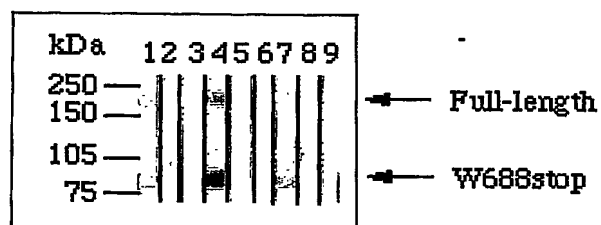
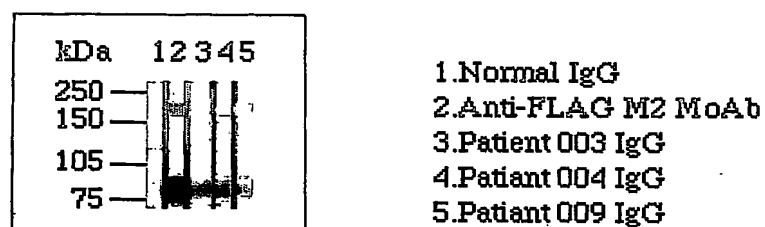


図 6



- 1.Patient 003 IgG with Q449 sup
- 2.Patient 003 IgG with W688 sup
- 3.Patient 003 IgG with Full sup
- 4.Patient 004 IgG with Q449 sup
- 5.Patient 004 IgG with W668 sup
- 6.Patient 004 IgG with Full sup
- 7.Patient 009 IgG with Q449 sup
- 8.Patient 009 IgG with W688 sup
- 9.Patient 009 IgG with Full sup

SEQUENCE LISTING

<110>JURIDICAL FOUNDATION THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RESEARCH INSTITUTE

<120>Composition comprising peptide fragment(s) recognized by antibody against von Willebrand Factor cleaving protease

<130>PH-2095PCT

<140>

<141>

<150> JP 2003/71979

<151> 2003-03-17

<160>18

<210>1

<211>1427

<212>PRT

<213>Homo sapiens

<400>1

Met His Gln Arg His Pro Arg Ala Arg Cys Pro Pro Leu Cys Val

1 5 10 15

Ala Gly Ile Leu Ala Cys Gly Phe Leu Leu Gly Cys Trp Gly Pro

20 25 30

Ser His Phe Gln Gln Ser Cys Leu Gln Ala Leu Glu Pro Gln Ala

35 40 45

Val Ser Ser Tyr Leu Ser Pro Gly Ala Pro Leu Lys Gly Arg Pro		
50	55	60
Pro Ser Pro Gly Phe Gln Arg Gln Arg Gln Arg Gln Arg Arg Ala		
65	70	75
Ala Gly Gly Ile Leu His Leu Glu Leu Leu Val Ala Val Gly Pro		
80	85	90
Asp Val Phe Gln Ala His Gln Glu Asp Thr Glu Arg Tyr Val Leu		
95	100	105
Thr Asn Leu Asn Ile Gly Ala Glu Leu Leu Arg Asp Pro Ser Leu		
110	115	120
Gly Ala Gln Phe Arg Val His Leu Val Lys Met Val Ile Leu Thr		
125	130	135
Glu Pro Glu Gly Ala Pro Asn Ile Thr Ala Asn Leu Thr Ser Ser		
140	145	150
Leu Leu Ser Val Cys Gly Trp Ser Gln Thr Ile Asn Pro Glu Asp		
155	160	165
Asp Thr Asp Pro Gly His Ala Asp Leu Val Leu Tyr Ile Thr Arg		
170	175	180
Phe Asp Leu Glu Leu Pro Asp Gly Asn Arg Gln Val Arg Gly Val		
185	190	195
Thr Gln Leu Gly Gly Ala Cys Ser Pro Thr Trp Ser Cys Leu Ile		
200	205	210
Thr Glu Asp Thr Gly Phe Asp Leu Gly Val Thr Ile Ala His Glu		
215	220	225
Ile Gly His Ser Phe Gly Leu Glu His Asp Gly Ala Pro Gly Ser		
230	235	240
Gly Cys Gly Pro Ser Gly His Val Met Ala Ser Asp Gly Ala Ala		
245	250	255

Pro Arg Ala Gly Leu Ala Trp Ser Pro Cys Ser Arg Arg Gln Leu		
260	265	270
Leu Ser Leu Leu Ser Ala Gly Arg Ala Arg Cys Val Trp Asp Pro		
275	280	285
Pro Arg Pro Gln Pro Gly Ser Ala Gly His Pro Pro Asp Ala Gln		
290	295	300
Pro Gly Leu Tyr Tyr Ser Ala Asn Glu Gln Cys Arg Val Ala Phe		
305	310	315
Gly Pro Lys Ala Val Ala Cys Thr Phe Ala Arg Glu His Leu Asp		
320	325	330
Met Cys Gln Ala Leu Ser Cys His Thr Asp Pro Leu Asp Gln Ser		
335	340	345
Ser Cys Ser Arg Leu Leu Val Pro Leu Leu Asp Gly Thr Glu Cys		
350	355	360
Gly Val Glu Lys Trp Cys Ser Lys Gly Arg Cys Arg Ser Leu Val		
365	370	375
Glu Leu Thr Pro Ile Ala Ala Val His Gly Arg Trp Ser Ser Trp		
380	385	390
Gly Pro Arg Ser Pro Cys Ser Arg Ser Cys Gly Gly Gly Val Val		
395	400	405
Thr Arg Arg Arg Gln Cys Asn Asn Pro Arg Pro Ala Phe Gly Gly		
410	415	420
Arg Ala Cys Val Gly Ala Asp Leu Gln Ala Glu Met Cys Asn Thr		
425	430	435
Gln Ala Cys Glu Lys Thr Gln Leu Glu Phe Met Ser Gln Gln Cys		
440	445	450
Ala Arg Thr Asp Gly Gln Pro Leu Arg Ser Ser Pro Gly Gly Ala		
455	460	465

Ser Phe Tyr His Trp Gly Ala Ala Val Pro His Ser Gln Gly Asp	470	475	480
Ala Leu Cys Arg His Met Cys Arg Ala Ile Gly Glu Ser Phe Ile	485	490	495
Met Lys Arg Gly Asp Ser Phe Leu Asp Gly Thr Arg Cys Met Pro	500	505	510
Ser Gly Pro Arg Glu Asp Gly Thr Leu Ser Leu Cys Val Ser Gly	515	520	525
Ser Cys Arg Thr Phe Gly Cys Asp Gly Arg Met Asp Ser Gln Gln	530	535	540
Val Trp Asp Arg Cys Gln Val Cys Gly Gly Asp Asn Ser Thr Cys	545	550	555
Ser Pro Arg Lys Gly Ser Phe Thr Ala Gly Arg Ala Arg Glu Tyr	560	565	570
Val Thr Phe Leu Thr Val Thr Pro Asn Leu Thr Ser Val Tyr Ile	575	580	585
Ala Asn His Arg Pro Leu Phe Thr His Leu Ala Val Arg Ile Gly	590	595	600
Gly Arg Tyr Val Val Ala Gly Lys Met Ser Ile Ser Pro Asn Thr	605	610	615
Thr Tyr Pro Ser Leu Leu Glu Asp Gly Arg Val Glu Tyr Arg Val	620	625	630
Ala Leu Thr Glu Asp Arg Leu Pro Arg Leu Glu Glu Ile Arg Ile	635	640	645
Trp Gly Pro Leu Gln Glu Asp Ala Asp Ile Gln Val Tyr Arg Arg	650	655	660
Tyr Gly Glu Glu Tyr Gly Asn Leu Thr Arg Pro Asp Ile Thr Phe	665	670	675

Thr Tyr Phe Gln Pro Lys Pro Arg Gln Ala Trp Val Trp Ala Ala	680	685	690
Val Arg Gly Pro Cys Ser Val Ser Cys Gly Ala Gly Leu Arg Trp	695	700	705
Val Asn Tyr Ser Cys Leu Asp Gln Ala Arg Lys Glu Leu Val Glu	710	715	720
Thr Val Gln Cys Gln Gly Ser Gln Gln Pro Pro Ala Trp Pro Glu	725	730	735
Ala Cys Val Leu Glu Pro Cys Pro Pro Tyr Trp Ala Val Gly Asp	740	745	750
Phe Gly Pro Cys Ser Ala Ser Cys Gly Gly Gly Leu Arg Glu Arg	755	760	765
Pro Val Arg Cys Val Glu Ala Gln Gly Ser Leu Leu Lys Thr Leu	770	775	780
Pro Pro Ala Arg Cys Arg Ala Gly Ala Gln Gln Pro Ala Val Ala	785	790	795
Leu Glu Thr Cys Asn Pro Gln Pro Cys Pro Ala Arg Trp Glu Val	800	805	810
Ser Glu Pro Ser Ser Cys Thr Ser Ala Gly Gly Ala Gly Leu Ala	815	820	825
Leu Glu Asn Glu Thr Cys Val Pro Gly Ala Asp Gly Leu Glu Ala	830	835	840
Pro Val Thr Glu Gly Pro Gly Ser Val Asp Glu Lys Leu Pro Ala	845	850	855
Pro Glu Pro Cys Val Gly Met Ser Cys Pro Pro Gly Trp Gly His	860	865	870
Leu Asp Ala Thr Ser Ala Gly Glu Lys Ala Pro Ser Pro Trp Gly	875	880	885

Ser Ile Arg Thr Gly Ala Gln Ala Ala His Val Trp Thr Pro Ala		
890	895	900
Ala Gly Ser Cys Ser Val Ser Cys Gly Arg Gly Leu Met Glu Leu		
905	910	915
Arg Phe Leu Cys Met Asp Ser Ala Leu Arg Val Pro Val Gln Glu		
920	925	930
Glu Leu Cys Gly Leu Ala Ser Lys Pro Gly Ser Arg Arg Glu Val		
935	940	945
Cys Gln Ala Val Pro Cys Pro Ala Arg Trp Gln Tyr Lys Leu Ala		
950	955	960
Ala Cys Ser Val Ser Cys Gly Arg Gly Val Val Arg Arg Ile Leu		
965	970	975
Tyr Cys Ala Arg Ala His Gly Glu Asp Asp Gly Glu Glu Ile Leu		
980	985	990
Leu Asp Thr Gln Cys Gln Gly Leu Pro Arg Pro Glu Pro Gln Glu		
995	1000	1005
Ala Cys Ser Leu Glu Pro Cys Pro Pro Arg Trp Lys Val Met Ser		
1010	1015	1020
Leu Gly Pro Cys Ser Ala Ser Cys Gly Leu Gly Thr Ala Arg Arg		
1025	1030	1035
Ser Val Ala Cys Val Gln Leu Asp Gln Gly Gln Asp Val Glu Val		
1040	1045	1050
Asp Glu Ala Ala Cys Ala Ala Leu Val Arg Pro Glu Ala Ser Val		
1055	1060	1065
Pro Cys Leu Ile Ala Asp Cys Thr Tyr Arg Trp His Val Gly Thr		
1070	1075	1080
Trp Met Glu Cys Ser Val Ser Cys Gly Asp Gly Ile Gln Arg Arg		
1085	1090	1095

Arg Asp Thr Cys Leu Gly Pro Gln Ala Gln Ala Pro Val Pro Ala			
1100	1105	1110	
Asp Phe Cys Gln His Leu Pro Lys Pro Val Thr Val Arg Gly Cys			
1115	1120	1125	
Trp Ala Gly Pro Cys Val Gly Gln Gly Thr Pro Ser Leu Val Pro			
1130	1135	1140	
His Glu Glu Ala Ala Ala Pro Gly Arg Thr Thr Ala Thr Pro Ala			
1145	1150	1155	
Gly Ala Ser Leu Glu Trp Ser Gln Ala Arg Gly Leu Leu Phe Ser			
1160	1165	1170	
Pro Ala Pro Gln Pro Arg Arg Leu Leu Pro Gly Pro Gln Glu Asn			
1175	1180	1185	
Ser Val Gln Ser Ser Ala Cys Gly Arg Gln His Leu Glu Pro Thr			
1190	1195	1200	
Gly Thr Ile Asp Met Arg Gly Pro Gly Gln Ala Asp Cys Ala Val			
1205	1210	1215	
Ala Ile Gly Arg Pro Leu Gly Glu Val Val Thr Leu Arg Val Leu			
1220	1225	1230	
Glu Ser Ser Leu Asn Cys Ser Ala Gly Asp Met Leu Leu Leu Trp			
1235	1240	1245	
Gly Arg Leu Thr Trp Arg Lys Met Cys Arg Lys Leu Leu Asp Met			
1250	1255	1260	
Thr Phe Ser Ser Lys Thr Asn Thr Leu Val Val Arg Gln Arg Cys			
1265	1270	1275	
Gly Arg Pro Gly Gly Gly Val Leu Leu Arg Tyr Gly Ser Gln Leu			
1280	1285	1290	
Ala Pro Glu Thr Phe Tyr Arg Glu Cys Asp Met Gln Leu Phe Gly			
1295	1300	1305	

Pro Trp Gly Glu Ile Val Ser Pro Ser Leu Ser Pro Ala Thr Ser
1310 1315 1320
Asn Ala Gly Gly Cys Arg Leu Phe Ile Asn Val Ala Pro His Ala
1325 1330 1335
Arg Ile Ala Ile His Ala Leu Ala Thr Asn Met Gly Ala Gly Thr
1340 1345 1350
Glu Gly Ala Asn Ala Ser Tyr Ile Leu Ile Arg Asp Thr His Ser
1355 1360 1365
Leu Arg Thr Thr Ala Phe His Gly Gln Gln Val Leu Tyr Trp Glu
1370 1375 1380
Ser Glu Ser Ser Gln Ala Glu Met Glu Phe Ser Glu Gly Phe Leu
1385 1390 1395
Lys Ala Gln Ala Ser Leu Arg Gly Gln Tyr Trp Thr Leu Gln Ser
1400 1405 1410
Trp Val Pro Glu Met Gln Asp Pro Gln Ser Trp Lys Gly Lys Glu
1415 1420 1425
Gly Thr
1427

<210>2

<211>30

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>2

ctggagcacg acggcgcgcc cggcagcggc

30

<210>3

<211>30

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>3

atgtgcaaca ctcaggcctg cgagaagacc

30

<210>4

<211>30

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>4

ccaacctgac cagtgtctac attgccaacc

30

<210>5

<211>21

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>5

ctggagccct gcccacctag g

21

<210>6

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>6

tccgtcgact cttatcactt atcgatcatcg tccttgtagt cgtcccacac gcagcgcgcc 60

cg

62

<210>7

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>7

tccgtcgact cttatcactt atcgatcatg tccttgtagt cgcgcccatg cactgctgct 60
at 62

<210>8

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>8

gccgtcgact cttatcactt atcgatcatg tccttgtagt cttgcgacat gaactccagc 60
tg 62

<210>9

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>9

gccgtcgact cttatcactt atcgatcatg tccttgtagt ccagggtggg ggtaactgtc 60
ag 62

<210>10

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>10

tccgtcgact cttatcactt atcgatcatcg tccttgtagt ccacccaggc ctgccgtggc 60
tt 62

<210>11

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>11

tccgtcgact cttatcactt atcgatcatcg tccttgtagt cgtagggagg gcagggttcg 60
ag 62

<210>12

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>12

tccgtcgact cttatcactt atcgatcatcg tccttgtagt ccctggcagg gcagggttcg 60
gg 62

<210>13

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>13

gccgtcgact cttatcactt atcgatcatcg tccttgtagt ccacgtgtgc agcttgagcc 60
cc 62

<210>14

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>14

gccgtcgact cttatcactt atcgtcacg tcctttagt ccttaggtgg gcagggtcc 60
ag 62

<210>15

<211>62

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>15

gccgtcgact cttatcactt atcgtcacg tcctttagt caccctgtcc cacacagggc 60
cc 62

<210>16

<211>60

<212>DNA

<213>Homo sapiens

<400>16

tccaagcttg tcgactctta tcacttatcg tcacgtcct ttagtcggt tccttcctt 60

<210>17

<211>27

<212>DNA

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Description of Artificial Sequence:Synthetic DNA

<400>17

gactacaagg acgatgacga taagtga 27

<210>18

<211>8

<212>RPT

<213>Artificial Sequence

<220>

<223>Description of Artificial Sequence:Synthetic peptide

<400>18

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/003602

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07K16/40, A61K39/00, A61P7/04, C12N9/64, G01N33/53,
G01N33/564

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07K16/40, A61K39/00, A61P7/04, C12N9/64, G01N33/53,
G01N33/564

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
BIOSIS, MEDLINE, WPIDS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	PLAOMAUER, B. et al., Epitope Mapping of Anti-ADAMTS-13 Antibodies in Patients with Acquired TTP., Blood, 16 November, 2003 (16.11.03), Vol.102(11), p.540a	1-14
X/Y1	PLAIMAUER, B. et al., Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13)., Blood, 15 November, 2002 (15.11.02), Vol.100(10), pages 3626 to 3632	1,2/3-14
X/Y1	GERRITSEN, HE. et al., Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease., Blood, 15 September, 2001 (15.09.01), Vol.98(6), pages 1654 to 1661	1,2/3-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 April, 2004 (19.04.04)

Date of mailing of the international search report
11 May, 2004 (11.05.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/003602

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y2	HUANG, CC. et al., Epitope mapping of factor VIII inhibitor antibodies of Chinese origin., Br J.Haematol., 2001 June, Vol.113(4), pages 915 to 924	1-14
Y2	NARDI, MA. et al., GPIIIa-(49-66) is a major pathophysiologically relevant antigenic determinant for anti-platelet GPIIIa of HIV-1-related immunologic thrombocytopenia., Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 08 July, 1997 (08.07.97), Vol.94(14), pages 7589 to 7594	1-14
Y2	JP 10-500705 A (President and Fellows of Harvard College), 20 January, 1998 (20.01.98), & CA 2189738 A & EP 759771 A & WO 96/27387 A	1-14
A	KOKAME, K. et al., Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity., Proc.Natl.Acad.Sci.USA., 03 September, 2002 (03.09.02), Vol.99(18), pages 11902 to 11907	1-14
A	CAL, S. et al., Cloning, expression analysis, and structural characterization of seven novel human ADAMTSs, a family of metalloproteinases with disintegrin and thrombospondin-1 domains., Gene., 23 January, 2002 (23.01.02), Vol.283(1-2), pages 49 to 62	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/003602

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.5 of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

☒ a sequence listing

☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

☐ in written format

☒ in computer readable form

c. time of filing/furnishing

☐ contained in the international application as filed

☒ filed together with the international application in computer readable form

☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07K 16/40, A61K 39/00, A61P 7/04, C12N 9/64
G01N 33/53, G01N 33/564

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07K 16/40, A61K 39/00, A61P 7/04, C12N 9/64
G01N 33/53, G01N 33/564

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
BIOSIS, MEDLINE, WPIDS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	PLAOMAUER, B et al., Epitope Mapping of Anti-ADAMTS-13 Antibodies in Patients with Acquired TTP. Blood. 2003 Nov 16, vol. 102(11), p. 540a	1-14
X/ Y1	PLAIDAUER, B et al., Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). Blood. 2002 Nov 15, vol. 100(10), pp. 3626-3632	1, 2/ 3-14

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.04.2004

国際調査報告の発送日

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

長 井 啓 子

4N 9123

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X/ Y1	GERRITSEN, HE et al., Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. Blood. 2001 Sep 15, vol. 98(6), pp. 1654-1661	1, 2/ 3-14
Y2	HUANG, CC et al., Epitope mapping of factor VIII inhibitor antibodies of Chinese origin. Br J Haematol. 2001 Jun, vol. 113(4), pp. 915-924	1-14
Y2	NARDI, MA et al., GPIIIa-(49-66) is a major pathophysiologically relevant antigenic determinant for anti-platelet GPIIIa of HIV-1-related immunologic thrombocytopenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Jul 8, vol. 94(14), pp. 7589-7594	1-14
Y2	JP 10-500705 A(プレジデント アンド フェローズ オブ ハーバード カレッジ)1998.01.20 & CA 2189738 A & EP 759771 A & WO 96/27387 A	1-14
A	KOKAME, K et al., Mutations and common polymorphisms in ADAMT S13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Sep 3, vol. 99(18), pp. 11902-11907	1-14
A	CAL, S et al., Cloning, expression analysis, and structural characterization of seven novel human ADAMTSs, a family of metalloproteinases with disintegrin and thrombospondin-1 domains. Gene. 2002 Jan 23, vol. 283(1-2), pp. 49-62	1-14

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

2. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**